Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktoren: Professor Dr. med. Karl Julius Ullrich
Professor Dr. med. Otto H. Gauer

Der proximale Tubulus der Rattenniere als elektrischer Leiter

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulrich Hegel
aus Berlin

1960

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktoren: Professor Dr. med. Karl Julius Ullrich
Professor Dr. med. Otto H. Gauer

Der proximale Tubulus der Rattenniere als elektrischer Leiter

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulrich Hegel
aus Berlin

Dekan: Professor Dr. med. Hans Wolfgang Spier
Referent: Professor Dr. med. Karl Julius Ullrich
Korreferent: Professor Dr. med. Franz Josef Haberich

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 11.März 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Experimente	4
I. Allgemeine Versuchsbedingungen	4
II. Messung des effektiven elektrischen Wandwiderstandes	9
1. mit einzelnen Mikroelektroden	9
2. mit jeweils zwei Mikroelektroden	11
3. mit doppelläufigen Mikroelektroden	11
III. Messung der Längenkonstanten für passive elektrische Leitung	12
1. durch mehrfache Punktion eines Lumens	12
2. durch Capillarverschieben im Lumen	13
3. durch Variation der elektrischen Länge durch Verschieben einer Ölsäule im Lumen	13
4. durch gleichzeitige Spannungsmessung in zwei Lumenquerschnitten	14
C. Resultate	16
I. Effektiver Wandwiderstand	16
II. Längenkonstante	17
D. Diskussion	19
E. Anhang: Ableitung von Formeln zur Auswertung der Messungen nach B III, 3	25
F. Zusammenfassung	29
G. Literatur	30
H. Lebenslauf	35

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552705_0068

A. Einleitung

Ein Nierentubulus kann hinsichtlich seiner passiven elektrischen Eigenschaften als ein elektrisches Kabel mit mangelhafter Isolation aufgefaßt werden: Die das Lumen ausfüllende elektrolythaltige Flüssigkeit bildet den leitenden Kabelkern, während das Wandepithel die Isolation gegen das gleichfalls leitende, weil elektrolythaltige Interstitium darstellt. Die elektrischen Eigenschaften dieses "Tubuluskabels" lassen sich durch zwei Größen charakterisieren:

1) durch den effektiven elektrischen Widerstand R_{eff}, unter dem derjenige Widerstand zu verstehen ist, der zwischen einem Punkt auf der Achse des Lumens und der den Tubulus außen umgebenden Flüssigkeit bei intakter Tubuluswand meßbar ist, und
2) durch die Längenkonstante λ für den Abfall einer dem Lumen an einer Stelle aufgezwungenen Spannung. Unter λ ist dabei diejenige Strecke, gemessen auf der Lumenachse, zu verstehen, längs derer eine solche Spannung auf den Bruchteil 1/e = 37% ihres Wertes abfällt.

Nach der Theorie der homogenen Leitung ("Kabeltheorie") hängen λ und R_{eff} in solcher Weise miteinander zusammen, daß sich jeweils die eine Größe aus der anderen berechnen läßt, falls der Lumenradius r und der spezifische Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit bekannt sind (vgl. Anhang, Gleichung (6a)).

Die vorliegende Arbeit berichtet über experimentelle Bestimmungen der beiden Größen R_{eff} und λ unabhängig voneinander mit jeweils mehreren unterschiedlichen Methoden an proximalen Tubuli von Rattennieren in situ.

Das Interesse an einer direkten Messung der passiven elektrischen Eigenschaften des proximalen Tubulus entstand ursprünglich im Zusammenhang mit Arbeiten über den Nachweis einer eventuellen transtubulären Potentialdifferenz. Eigene Untersuchungen hatten nämlich im Gegensatz zur bisherigen Literatur ergeben, daß eine solche Potentialdifferenz am proximalen Tubulus nicht existiert [9].

Bei diesem Befund bedurfte es besonderer Nachweise dafür, daß beim Einstechen der Mikroelektroden keine Lecks in die Tubuluswand gerissen worden waren, durch die etwaige transtubuläre Potentialdifferenzen hätten kurzgeschlossen werden können. Messungen des effektiven elektrischen Wandwiderstandes sollten deshalb dazu dienen, durch eine Widerstandskontrolle das Auftreten von Lecks in der Tubuluswand erkennen zu lassen. Der Einfluß eines eventuellen Lecks an der Einstichstelle auf eine Potentialdifferenz am Ort der weiter entfernt im Lumen liegenden Elektrodenspitze sollte dabei um so geringer sein, je größer die Längenkonstante im Vergleich zur Ausdehnung der durch einen Einstich eventuell lädierten oder kurzgeschlossenen potentialerzeugenden Einheiten der Tubuluswand ist *).

Eine erste Bestimmung von λ war bereits 1961 von WINDHAGER und GIEBISCH vorgenommen worden 26), die einen Wert von $\lambda = 55\,\mu$ angegeben hatten. Daraus würde mit $r = 10\,\mu$ (siehe unten Diskussion und Anhang, Gleichung (6)) ein R_{eff} von 44 kΩ folgen. In späteren Experimenten hatten jedoch GIEBISCH, KLOSE et al. [14]) bei Einspeisung eines Stromes von etwa 10^{-8} A in den Tubulus einen Spannungsabfall von 18 mV beobachtet, woraus sich ein R_{eff} von $\frac{18 \cdot 10^{-3}\ V}{10^{-8}\ A} = 1{,}8$ MΩ ergibt. Diese Diskrepanz ist zu groß, als

---

*) Die Längenkonstante für passive elektrische Leitung λ stellt für die Abschätzung eines solchen Einflusses eine obere Grenze dar. Denn hätte das Tubuluslumen eine Potentialdifferenz gegen das Interstitium, die das Produkt der aktiven Tätigkeit seiner Wandzellen wäre, so würde das Potential bei der Herstellung eines transmuralen Lecks zu diesem hin mit einer Längenkonstanten λ^* abfallen, die außer von r und ϱ, wie die oben definierte Längenkonstante λ, noch von der Zahl und Größe der durch das Leck zerstörten potentialerzeugenden Einheiten und deren Innenwiderstand abhängen müßte. Es ist aber unwahrscheinlich, daß durch Punktion an einer Stelle die Potentialbildung innerhalb des Wandschlauches auf einer mit dem hier gemessenen λ vergleichbaren Länge zerstört wird, woraus folgt, daß λ^* eher kleiner als λ sein dürfte.

daß sie durch Unsicherheiten des oben eingesetzten Radius bedingt sein könnte. Sie läßt sich auch nicht durch die Tatsache erklären, daß die zur Berechnung von R_{eff} aus λ benutzten Gleichungen der Kabeltheorie in der unmittelbaren Umgebung der Stromeinspeisungsstelle nicht streng gelten - ein Effekt, auf den erstmals FATT u. KATZ bei Messungen an Muskelfasern hingewiesen haben [6].

Auch zur Klärung dieser Diskrepanz waren neue voneinander unabhängige Bestimmungen von R_{eff} und λ erforderlich.

Schließlich aber erlauben Werte für R_{eff} und λ eine Abschätzung des spezifischen elektrischen Flächenwiderstandes des Tubulusepithels. Diese Größe verdient im Hinblick auf den Mechanismus der Reabsorption der Elektrolyte des Ultrafiltrates durch aktiven Transport einerseits und passive Diffusion andererseits besonderes Interesse. Für eine Reihe anderer Epithelien sind Zahlenwerte bereits bekannt, so daß sich hier die Möglichkeit bietet, eine wesentliche funktionelle Eigenschaft des Tubulusepithels mit anderen Epithelien quantitativ zu vergleichen. Außerdem ist der spezifische Flächenwiderstand des Tubulusepithels auch aus methodisch ganz andersartigen Messungen unidirektionaler Ionenflüsse herleitbar. Der Grad der Übereinstimmung mit den Resultaten solcher Experimente gestattet es daher, sowohl die Zuverlässigkeit sehr verschiedener experimenteller Methoden als auch die Anwendbarkeit der bei der Auswertung zugrundegelegten Modellvorstellungen zu prüfen.

B. Experimente

I. Allgemeine Versuchsbedingungen, vgl. auch [9],[10].

Versuchstiere. Alle Versuche wurden an der funktionstüchtigen Niere narkotisierter Albinoratten in situ ausgeführt. Verwendet wurden Tiere beiderlei Geschlechtes der Stämme Sprague Dawley und FW 49 mit Gewichten zwischen ca. 150 und 350 g.

Narkose. Es wurde Nembutal oder Inaktin in wäßriger Lösung intraperitoneal verwendet. Die Anfangsdosis betrug ca. 60 bzw. 100 mg/kg Körpergewicht. Nembutal mußte im Laufe des Versuchs mehrmals i. m. nachgespritzt werden.

Präparation und Lagerung. Alle Tiere wurden tracheotomiert. Die Freilegung der linken Niere erfolgte durch Flankenschnitt und Abziehen der Fettkapsel unter Schonung der capsula fibrosa. Diese wurde in etwa der Hälfte der Versuche unmittelbar vor der Punktion entfernt. Die Tiere wurden auf einem temperaturkonstanten Operationstisch gelagert. Die Niere lag innerhalb der Bauchhöhle in einer mit Araldit isolierten beheizten Metallschale, die an einem eigenen Stativ befestigt war. Zur Abschirmung gegen die Atem- und Pulsbewegungen des Tieres wurde sie von einer getrennt gehalterten Plexiglasschale umfaßt, deren maximale äußere Durchmesser 21 und 25 mm betrugen. Der Luftspalt zwischen beiden Schalen war 0,5 bis 1 mm breit; in ihm sich ansammelnde Flüssigkeit wurde kontinuierlich abgesaugt. In der inneren Schale wurde die Niere entweder durch Watte fixiert oder in einer nach dem Eingießen langsam steif werdenden Agar-Lösung (2,5% Agar in isotoner NaCl-Lösung) eingebettet, wobei nur die Oberfläche für die Punktion frei blieb.

Die innere Schale wurde kontinuierlich mit einer vorgewärmten Lösung überspült (10 - 50 ml/h), so daß die Nierenoberfläche stets von einer 1 - 2 mm tiefen Flüssigkeitsschicht bedeckt war. Ein Einfluß verschiedener Badlösungen (isotone NaCl-Lösung, Ratten-Ringer-Lösung nach WARBURG[17], Tyrodelösung[17] oder durch Zusatz von Harnstoff und Bicarbonat modifizierte, mit 5,7% CO_2 äquilibrierte Tyrodelösung) auf die Potentialdifferenzen war nicht festzustellen. Die Temperatur im Nierenbad und die Rectaltempe-

ratur wurden bei 37°C konstant gehalten.

F u n k t i o n s z u s t a n d d e r N i e r e. In fast allen Versuchen wurden durch Lissamingrün-Injektion in die vena iugularis externa[19] wiederholt Farbstoffpassagen durchgeführt. Die Passagezeit für das sichtbare proximale Konvolut lag im Mittel bei 9,9 sec. Die Zeit von der Glomerulumpassage bis zum ersten Auftreten der Grünfärbung in einer distalen Tubulusschlinge betrug im Durchschnitt 33,9 sec. Die Diuresemengen beider Nieren, die in mehreren Experimenten durch getrenntes Katheterisieren der beiden Ureteren kontrolliert wurden, lagen zwischen 0,9 und 4,4 μ l/min pro Niere.

V e r s u c h s d a u e r. Vom Anlegen des Flankenschnitts bis zur ersten Punktion vergingen meist 1 - 2 Stunden. Die Dauer der eigentlichen Messungen betrug dann noch bis zu drei Stunden.

E l e k t r o d e n. In den meisten Versuchen wurden Ling-Gerard-Capillaren verwendet, die aus Pyrexglas mit einem Senkrechtziehgerät hergestellt waren. Die Füllung mit filtrierten Lösungen (Porendurchmesser des Filters 30 - 100 mμ) erfolgte entweder durch Unterdruck bei 70 - 80°C oder nach dem Verfahren von TASAKI.[20] Es wurden nur Elektroden mit Spitzenpotentialen $\leq$ 5mV verwendet. Bei Füllung mit 3m KCl-Lösung oder 2,5 m KCl- 0,5m KNO_3-Lösung [3]) lagen die Widerstände der Elektroden zwischen 1,5 und ca. 50MΩ. Die Capillaren mit den kleinsten Widerständen hatten äußere Spitzendurchmesser von 0,7 μ; im allgemeinen waren die Spitzen aber lichtmikroskopisch nicht mehr meßbar. In einem Teil der Versuche wurden Capillaren verwendet, die mit isotoner NaCl-Lösung unter Zusatz von 0,2% Lissamingrün gefüllt waren. Im einzelnen ist jeweils bei den Experimenten erwähnt, welcher Typ an Mikroelektroden verwendet wurde.

P u n k t i o n s t e c h n i k. Die Beobachtung erfolgte durch ein Leitz-Binocularmikroskop bei 216facher Vergrößerung. Bei flachem Lichteinfall ließen sich die Capillaren in der Badlösung durch einen Lichtreflex in der Spitzengegend gut erkennen. Vor allen Punktionen wurde die Capillare so ausgerich-

tet, daß sie möglichst genau in Achsenrichtung über der Mitte eines längeren geraden Teils einer Tubulusschlinge stand; dann wurde sie auf die Tubulusoberfläche aufgelegt. Dieses Auflegen führte zu kleinen Potential- und Widerstandsänderungen der Elektrode, die durch einen Spannungs-Frequenz-Konverter am Ausgang des Meßgeräts über einen Lautsprecher hörbar gemacht wurden. Von dieser Lage aus wurde die Capillare axial in einem Winkel von 10 - 20° zur Nierenoberfläche vorgeschoben. Die Länge des Vorschubs konnte aus der Bewegung einer Lackmarke, die nahe der Spitze auf dem Capillarschaft aufgebracht war, abgelesen werden.

L o k a l i s a t i o n. Die Bestimmung der Penetration der unsichtbaren Elektrodenspitze ins Lumen erfolgte nach dem Verfahren von GIEBISCH [10], [12]. Danach liegt die Elektrode sicher im Lumen, wenn sich beim Auspritzen gefärbter Flüssigkeit aus ihrer Spitze das Lumen der abführenden Tubulusschlingen diffus anfärbt. Führt das Ausspritzen nur zu einem umschriebenen Farbfleck, muß die Spitze noch in der Zellwand stecken. Als Farbstoff wurde Lissaminrün verwendet. Zur Vermeidung hoher Spitzenpotentiale mußten solche Capillaren statt mit 3m-KCl-Lösung mit isotoner NaCl-Lösung gefüllt werden. Beim Ausspritzen aus Capillaren, die mit ungefärbter 3m-KCl-Lösung gefüllt waren, ließ sich das Ausströmen von Elektrodenflüssigkeit ins Tubuluslumen ebenfalls beobachten, und zwar trat eine Weißfärbung des Bürstensaums, gelegentlich eine Weitung des Lumens und eine Dunkelfärbung und Prallfüllung der vorbeiziehenden Blutcapillaren auf. Diese Veränderungen waren in 5 - 20 sec reversibel.

In der Badlösung zeigten die Capillaren mit isotoner NaCl-Lösung während des Ausspritzens ein Strömungspotential von wenigen mV (Capillare negativ) und die 3m-KCl-Elektroden eine Abnahme des Spitzenpotentials und eine Verminderung des Widerstandes. Das sichtbare intraluminale Ausspritzen von KCl-Lösung in den Tubulus war ebenfalls stets mit einem starken Abfall des Capillarwiderstandes verbunden.

Weitere Kriterien für die Lokalisation der Elektrodenspitze ergaben sich aus der Tatsache, daß im Lumen des proximalen Tubulus keine transtubuläre Potentialdifferenz existiert [9], und daher beim Vorschieben einer Elektrode durch die potentialführenden Wandzellen die Anzeige in dem Moment auf 0 fällt, in dem die Elektrodenspitze ins Lumen eingedrungen ist [10]. Gleichzeitig mit der Potentialanzeige fällt bei der Penetration übrigens auch der Widerstand im Meßkreis auf den Wert vor Beginn der Punktion.

In den Versuchen mit zwei Mikroelektroden im selben Lumen, wie sie unten beschrieben sind, ergibt sich schließlich noch ein Kriterium aus dem plötzlichen Anstieg der Spannungskopplungsimpulse, wenn die zweite Elektrode in ein Lumen eindringt, dem bereits eine Fremdspannung durch die zuvor eingestochene erste Elektrode aufgeprägt ist.

E l e k t r i s c h e A n o r d n u n g. Der Stromlauf entsprach in allen Experimenten im Prinzip dem in Abb. 1 gezeigten Schema: Eine proximale Tubulusschlinge (T) wurde mit zwei Mikroelektroden punktiert. Über die erste Elektrode (A), deren intraluminale Lage durch Ausspritzen sichergestellt war (s.o.), wurden in das Tubuluslumen Stromimpulse von $6 \cdot 10^{-8}$ bis $4 \cdot 10^{-7}$ A Stärke in den verschiedenen Versuchen und 80 bis 700msec Dauer mit Impulsabständen zwischen 600 und 2200 msec eingespeist. Die Stromrichtung verlief stets vom Interstitium (+) zum Tubuluslumen (-). Um die spätere Potentialmessung in derselben Tubulusschlinge möglichst wenig zu beeinträchtigen, wurde der Impulsgenerator über einen hohen Vorwiderstand (100 MΩ) an die stromeinspeisende Capillare angeschlossen. Die Impulsstromstärke konnte bei konstanter Ausgangsspannung des Impulsgebers durch den Spannungsabfall am Eingangskreis A fortlaufend kontrolliert werden. Während der Stromeinspeisung wurde dieselbe Tubulusschlinge mit der zweiten Elektrode (B) punktiert. Die

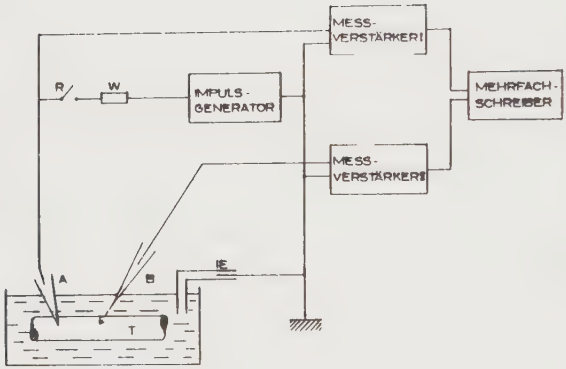

Abb. 1. Schema der elektrischen Anordnung. A Mikroelektrode für die Stromeinspeisung; B Mikroelektrode für die Potentialmessung; IE indifferente Elektrode; R Relais; T Tubulus; W Widerstand (100 MΩ). Einzelheiten s. Text.

zweite Elektrode diente zur Potentialmessung und registrierte außer den Potentialdifferenzen des Tubulus die überlagerten Fremdspannungspulse. Ungeachtet der jeweiligen Potentialanzeige wurde kurz nach dem Einstich der zweiten Elektrode aus ihrer Spitze Flüssigkeit ausgespritzt (2 - 8 atü Überdruck) und gleichzeitig das Ausströmen der Flüssigkeit ins Tubuluslumen unter dem Mikroskop beobachtet. Da Stromeinspeisung und Potentialmessung über die gleiche indifferente Elektrode erfolgten, zeigte der Meßkreis B bereits kleine Spannungsänderungen bei jedem Strompuls an, wenn Capillare B noch außerhalb des Tubulus im Nierenbad lag. Diese "Badkopplung" betrug in den einzelnen Versuchen zwischen 0,5 und 1,2 mV und blieb, unabhängig von der Lage der Elektroden zueinander, konstant, falls der Abstand ihrer Spitzen mehr als ca. 15 μ betrug. Alle während eines Versuches registrierten Spannungsimpulse wurden bei der Auswertung für den Betrag der Badkopplung korrigiert. Die Auswertegenauigkeit der Kopplungspulse betrug je nach Wahl des Meßbereichs ca. 0,2 - 1,0 mV.

Die Widerstandsmessung erfolgte fortlaufend und simultan mit der Potentialmessung nach folgendem, aus der Abbildung 1 ersichtlichen Prinzip: Über den Widerstand (W) und das Relais (R), die beide im Meßkopf des Verstärkers unmittelbar an der Eingangsröhre untergebracht waren (eigene Modifikation), wurde der Impulsgenerator direkt mit dem Eingangskreis des einen Meßverstärkers gekoppelt. Der in den Meßkreis eingespeiste Impulsstrom war allein durch die konstante Ausgangsspannung des Impulsgenerators und den Widerstand $W = 10^{10} \Omega$ bestimmt, da die Widerstände der Capillare (ca. 20 MΩ), des Gewebes (30 - 50 kΩ) und der Badlösung, zusammen mit der indifferenten Elektrode, (IE : 3 - 5 kΩ) dagegen vernachlässigbar klein waren. Die während jedes Stromimpulses am Meßkreis abfallende Spannung lieferte daher mit guter Näherung eine lineare Anzeige für den Widerstand der Meßcapillare. Ein ähnliches Verfahren

haben bereits WOODBURY et al. [27]) bei Arbeiten an der Schilddrüse angewendet. Die direkte Ankopplung des Impulsgebers an den empfindlichen Eingangskreis, die von der üblichen kapazitiven Kopplung abweicht, war deshalb zulässig, weil eine Belastung der in dieser Arbeit untersuchten Potentialquellen mit $10^{10}\Omega$ unkritisch war. Beim Ein- und Ausschalten des Relais während einer Registrierung trat nie eine nachweisbare Änderung des angezeigten Potentialwertes auf. Die Belastung des Gewebes und der Elektroden durch die aufgezwungenen Stromimpulse war ebenfalls zu vernachlässigen.

Das hier gewählte Verfahren der fortlaufenden Widerstandsüberwachung hat den Vorteil, daß gleichzeitig eine ungestörte Potentialmessung erfolgen kann, denn die Widerstandsimpulse überlagern sich der jeweiligen Potentialanzeige, so daß beide Größen im gleichen Kanal simultan registriert werden können. Die Auswertegenauigkeit für die Widerstandsmessimpulse betrug 5 - 10% des angezeigten Wertes.

M e ß- u n d R e g i s t r i e r g e r ä t e. Als Elektrometerverstärker wurden ein Keithley 603 Electrometeramplifier und ein ELS-Widebandelectrometer (BAK-Verstärker) benutzt. Der Gitterstrom des BAK wurde vor jeder Messung auf $< 10^{-13}$A abgeglichen, der des Keithley betrug $3 \cdot 10^{-13}$A. Der hohe Eingangswiderstand beider Verstärker wurde durch die Anordnung zur Widerstandsüberwachung (s. o.) auf $10^{10}\Omega$ vermindert. Die Anstiegszeiten (10 - 90%) für einen Rechteckpuls betrugen bei Einspeisung über die indifferente Elektrode und eine Meßcapillare von ca. 20 MΩ etwa 1 msec für den Keithley und ca. 60 μ sec für den BAK. Rechteckimpulse lieferte ein Tektronix-Impulsgeber Nr. 160/ 161/ 162. Zur Beobachtung und Registrierung dienten ein Oscilloskop Tektronix 565 und ein Mehrkanalschreiber Schwarzer-Physioscript PEE 4B. Der Schreiber erreichte eine Anstiegszeit von ca. 6 msec.

II. Messung des effektiven Wandwiderstandes (R_{eff})

1. E x p e r i m e n t e m i t e i n z e l n e n M i k r o e l e k t r o d e n. Registriert man die Widerstandsänderungen, die im Meßkreis bei Punktionen proximaler Tubuli mit ein-

läufigen Mikroelektroden auftreten [15]), so findet man Widerstandserhöhungen, die alle Werte zwischen 0 und einigen 100 MΩ annehmen können. Zum Beispiel ergab sich folgende Häufigkeitsverteilung der Widerstandserhöhungen bei der Auswertung von 125 Einstichen, die alle auf 0 mV führten, und bei denen daher die Elektrodenspitze bis ins Lumen vorgedrungen sein dürfte [9]):

Widerstandserhöhung im Meßkreis, ausgewertetes Intervall in MΩ	≤ 1	1-2	2-3	3-5	5-10	10-20	>20
Häufigkeit der Widerstandserhöhung im Intervall in % aller Einstiche	60	14	6	6	6	6	2

Dabei waren Mikroelektroden von Eigenwiderständen zwischen 10 und 50 MΩ verwendet worden.

Diese Widerstandserhöhungen können jedoch nicht ohne weiteres als Werte für R_{eff} aufgefaßt werden. Der Gesamtwiderstand im Meßkreis ist nämlich gleich der Summe aus dem Elektrodeneigenwiderstand und dem Widerstand des Mediums, das die Elektrodenspitze umgibt, und es ist bekannt, daß der Elektrodenwiderstand beim Durchfahren von Gewebe während einer Punktion sich durch mechanische Effekte an der Spitze erheblich ändern kann [15]). Aus diesem Grunde, und weil die biologische Streuung von R_{eff} unmöglich so groß sein kann wie die der oben aufgeführten Werte, muß man annehmen, daß die Streuung der Widerstandserhöhungen im Meßkreis im wesentlichen auf Änderungen der Elektrodeneigenwiderstände beruht. Eine eindeutige Bestimmung von R_{eff} war daher aus diesen Versuchen nicht möglich.

Die Häufung der Werte im Bereich ≤ 1M Ω , d. h. unterhalb der Grenze der Auswertbarkeit des hier verwendeten Meßverfahrens, ließ allerdings vermuten, daß auch R_{eff} in diesem Bereich zu suchen sei. Für die weiteren Versuche wurden daher Verfahren gewählt, die es erlauben, viel kleinere Widerstandsänderungen mit Mikroelektroden zuverlässig zu messen.

2. Experimente mit jeweils zwei Mikroelektroden. Sticht man zwei Mikroelektroden so in dasselbe Lumen ein, daß ihre Spitzen praktisch am gleichen Ort liegen, so kann man über die eine Elektrode einen Strom einspeisen und mit der anderen den Spannungsabfall messen, den dieser Strom an der den beiden Spitzen gemeinsamen Umgebung hervorruft. Die Grenze der Meßbarkeit von Widerstandsänderungen ist dabei lediglich durch die Genauigkeit bestimmt, mit der Strom und Spannung gemessen werden können. In den vorliegenden Experimenten lag diese Grenze bei wenigen k Ω .

Nach diesem Prinzip wurde eine Reihe von Versuchen mit besonders schlanken Ling-Gerard-Elektroden ausgeführt. Die Elektrodenspitzen wurden dabei lediglich nach der Potentialanzeige lokalisiert, d. h. die Capillaren wurden vorgeschoben, bis nach den Potentialschwankungen beim Durchfahren der Wand die Anzeige wieder bei 0 mV lag und, bei der zweiten Elektrode, die Überkopplungsimpulse von der bereits eingestochenen Stromcapillare sprunghaft angestiegen waren.

3. Experimente mit doppelläufigen Mikroelektroden. Nach dem unter 2. erläuterten Prinzip lassen sich Messungen von Widerstandsänderungen auch mit doppelläufigen Mikroelektroden ausführen, indem über den einen Schenkel der Strom eingespeist und über den anderen die Spannung gemessen wird. Dabei tritt wegen des sehr geringen Abstandes der beiden Spitzenöffnungen bereits in der Badlösung eine geringe Kopplung zwischen den Capillarschenkeln auf. Diese ist für jede Doppelelektrode unterschiedlich groß und wird durch den sogenannten Kopplungswiderstand beschrieben. Die nachzuweisenden Widerstandsänderungen dürfen in Prozent des Kopplungswiderstandes nicht kleiner als die prozentuale Genauigkeit des Meßverfahrens sein. Diese Bedingung war bei den hier referierten Experimenten erfüllt. Der Vorteil solcher Elektroden liegt darin, daß durch ein und dieselbe Manipulation beide Capillaren eingestochen werden. Allerdings lassen sich Doppelelektroden nicht so schlank wie einläufige herstellen; ihr Durchmesser nimmt von der Spitze an sehr rasch zu. Weil dadurch Verziehungen der Tubuluswand und des Lumens beim Einstechen verursacht werden können, wurden in zwei verschiedenen Versuchsreihen zwei Typen von Doppelelktroden angewendet:

L i n g - G e r a r d s c h e D o p p e l e l e k t r o d e n.

e hatten äußere Spitzendurchmesser von weniger als 1,5 μ
d waren mit ungefärbter (2,5 m KCL + 0,5 m KNO_3)-Lösung
füllt. Bei einem Widerstand der einzelnen Schenkel zwischen
und 20 M Ω betrug ihr Kopplungswiderstand im Bad im Mittel
k Ω . Er war vor und nach der Punktion reproduzierbar.

A n g e s c h l i f f e n e D o p p e l e l e k t r o d e n.

zu wurden Doppelcapillaren wie unter a) hergestellt und nach
m Ausziehen schräg angeschliffen. Dadurch ergibt sich an der
ektrodenspitze eine Schneide von solcher Schärfe, daß sich
e Elektrode ohne Gewebeverziehungen einstechen läßt. Man
mmt dafür aber größere Spitzendurchmesser in Kauf - in den
rliegenden Experimenten bis zu maximal 11 μ - und muß mit
r Gefahr rechnen, daß an der Einstichstelle größere Löcher in
e Tubuluswand geschnitten werden, als die Elektroden mit ihrem
haft ausfüllen. Die Elektrolytfüllung der angeschliffenen Dop-
lelektroden bestand aus Tyrodelösung, die mit 0,7% Lissamin-
ün angefärbt war. Die Eigenwiderstände der einzelnen Schenkel
gen zwischen 20 und 50 M Ω , der Kopplungswiderstand im Bad
Mittel bei 13 k Ω . Er war ebenfalls vor und nach der Punk-
on reproduzierbar.

I. Messung der Längenkonstanten (λ)

M e h r f a c h e P u n k t i o n e i n e s L u m e n s.

NDHAGER u. GIEBISCH [26]) bestimmten λ erstmals dadurch, daß
e den Abfall einer in den Tubulus eingespeisten Fremdspannung
ngs der Tubulusachse verfolgten. Dazu benutzten sie zwei
trennte Mikroelektroden. Die eine diente zur Einspeisung
nes die Fremdspannung erzeugenden konstanten Stromes, wäh-
nd die andere in mehreren definierten Abständen von der Ein-
eisungsstelle in denselben Tubulus zur Spannungsmessung ein-
stochen wurde. Aus eigenen Versuchen nach diesem Prinzip
gaben sich an mehreren Tieren keine ausreichend reproduzier-
erbaren Resultate. Offenbar besteht bei diesem Vorgehen die
fahr, daß die Tubuluswand beim wiederholten Einstechen der
eiten Capillare, besonders bei geringen Abständen von der

Einspeisungsstelle, gezerrt wird und dadurch Lecks entstehen.

2. Capillarverschieben im Lumen.
Eine Modifikation des vorstehend beschriebenen Verfahrens stellen Versuche mit Capillarverschieben dar. Über eine erste Elektrode wird durch einen gepulsten Strom eine Fremdspannung in das Lumen eingespeist. Eine zweite Elektrode wird zur Messung des Spannungsabfalles längs der Tubulusachse im Lumen vor- und zurückgeschoben. Hierfür eignen sich nur längere gestreckte Tubulusstücke. Als verschiebbare Elektroden wurden besonders schlanke lange Capillaren verwendet, aus deren submikroskopisch feinen Spitzen sich nicht genügend Flüssigkeit zur Lokalisation ausspritzen ließ. Der Abstand der beiden Capillarspitzen wurde deshalb mit Hilfe von Öltropfenpassagen bestimmt. Trotz der Einwände, die im Hinblick auf die Differenzierung transtubulärer von transcellulären Potentialdifferenzen gegen die Öltropfmethode geltend gemacht worden sind [12]), sind die Widerstandsänderungen, die bei der Passage von Öltropfen an der Capillarspitze fast immer auftreten, doch geeignet, die Stelle auf der Tubulusachse zu bestimmen, an der sich die Capillarspitze jeweils befindet.

3. Variation der elektrischen Länge durch Verschieben einer Ölsäule.
Hierbei werden zwei Elektroden mit bekanntem, möglichst geringem Abstand der Spitzen voneinander in das Lumen eingestochen, in dem gleichzeitig weit stromabwärts eine Ölinjektionscapillare liegt (vgl. Abb. 2). Aus der Ölcapillare wird sodann das gefärbte Öl - in den vorliegenden Versuchen Ricinusöl - ausgespritzt und gegen den Strom langsam bis zu den Elektrodenspitzen vorgedrückt. Während des Vorschiebens der Ölsäule ändert sich mit dem Abstand der Ölfront von den Elektroden die elektrisch wirksame Länge des Lumens und damit sein effektiver Widerstand. Mit Hilfe einer im Anhang dieser Arbeit gegebenen Anwendung der Theorie der homogenen Leitung lassen sich diese Widerstands-

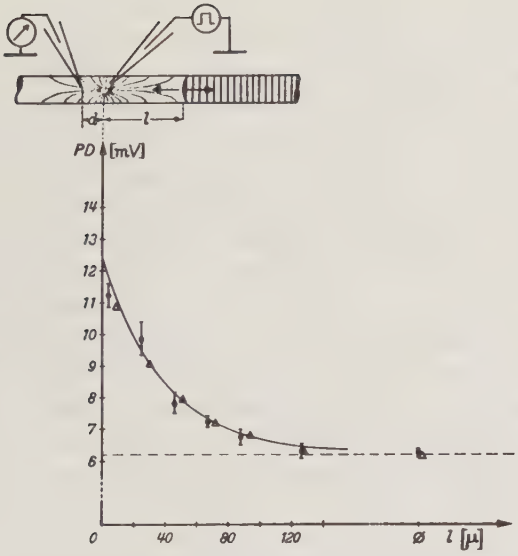

Abb. 2. Am Ort der Stromeinspeisung gemessene Spannung $U_o(l)$ in Abhängigkeit von der Entfernung l der Front einer Ölsäule im abführenden Tubulusteil vom Ort der Einspeisung. Die Kreise geben die Mittelwerte der Hin- und Rückmessung zweier Meßreihen an, in denen die Spitzen beider Capillaren am gleichen Ort lagen ($d \approx 0$). Fehlerbalken: $\pm$ SD. Die eingetragene Funktion gibt den theoretisch erwarteten Verlauf wieder nach Gl. (7) des Anhangs, angepaßt an die fünf ausgefüllten Kreise. Die Dreiecke entsprechen einer Meßreihe, bei der beide Elektrodenspitzen $d = 13\,\mu$ voneinander entfernt waren und die mit Hilfe der Gl. (8) des Anhangs auf $d = 0$ zurückgerechnet wurde. Die gestrichelte Horizontale bezeichnet die berechnete Asymptote der Funktion (7). Die Punkte bei ø entsprechen Messungen, bei denen noch kein Öl im Tubulus war.

variationen sowohl auf λ wie auf R_{eff} ausworten.

4. G l e i c h z e i t i g e S p a n n u n g s m e s s u n g
   i n z w e i L u m e n q u e r s c h n i t t e n.

Eine Kontrolle darüber, ob beim Einstich einer Mikroelektrode die Tubuluswand merkbar aufgerissen wird, erlaubt das Verfahren mit zwei spannungsmessenden Elektroden. (vgl. Abb. 3) Dabei werden zunächst die stromführende Capillare und eine erste Meßcapillare dicht beieinander in dasselbe Lumen eingestochen und ihre intraluminale Lage durch Ausspritzen von Elektrodenflüssigkeit gesichert. Sodann wird in bekanntem Abstand von der ersten eine weitere Meßcapillare in dasselbe Lumen eingestochen. Gelingt es dabei, mit der Spitze dieser dritten Capillare ins Lumen vorzudringen, bevor sich an dieser Stelle transmurale Lecks ausgebildet haben, so läßt sich λ aus den Spitzenabständen der beiden messenden Elektroden und dem Verhältnis der von ihnen angezeigten Impulshöhen berechnen - unabhängig davon, ob an den Punktionsstellen der beiden zuerst eingestochenen Capillaren Lecks bestehen oder nicht. Daß Leckbildung tatsächlich vorkommen kann, folgt aus der Beobachtung, daß die an der dritten Capillare registrierten Spannungskopplungsimpulse von dem beim Einstich sprunghaft erreichten Maximalwert gelegentlich langsam abfielen. In solchen Fällen wurdenfür die Auswertung auf λ nur die frühesten Werte zugrunde gelegt.

Für die direkte Auswertbarkeit der durch die ins Lumen eingespeisten Stromimpulse am Tubulusepithel erzeugten Spannungsstöße auf R_{eff} bzw. für die Anwendbarkeit der Theorie l i n e a r e r homogener Leitungen zur Auswertung auf λ muß vorausgesetzt werden, daß das Tubulusepithel im genannten Strombereich eine lineare Strom-Spannungscharakteristik aufweist, d. h., sich wie ein Ohmscher Widerstand verhält. WINDHAGER u. GIEBISCH fanden bei ihren Kurzschlußstrommessungen einen solchen linearen Zusammenhang bis zu Strom-

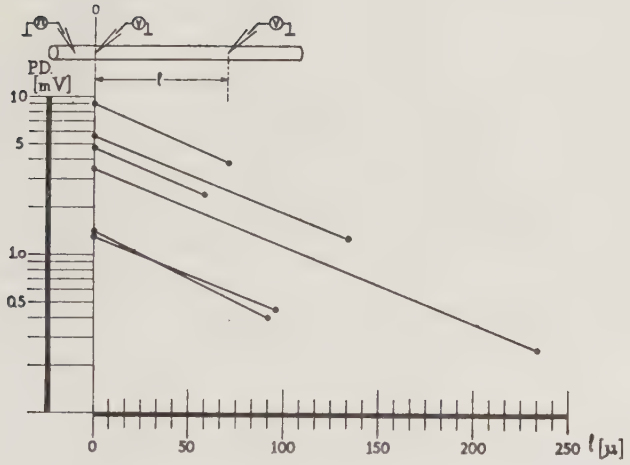

Abb. 3. Abfall einer dem Tubuluslumen aufgezwungenen Fremdspannung längs der Tubulusachse. Messung mit zwei spannungsanzeigenden Elektroden. Halblogarithmische Auftragung. Jedes durch eine Gerade verbundene Punktepaar entspricht einer einmaligen Messung an einem jeweils anderen Tubulus.

stärken von $3 \cdot 10^{-6}$ A [26]). Eigene Untersuchungen ergaben im Bereich zwischen $6 \cdot 10^{-7}$ und $4 \cdot 10^{-8}$ A keine Abweichung von der Linearität, die größer als die Meßgenauigkeit in diesen Versuchen von etwa 5% gewesen wäre. Lineare Strom-Spannungsbeziehungen in vergleichbaren Strombereichen sind im übrigen von verschiedenen Autoren auch an anderen Epithelien nachgewiesen worden, so z. B. an der Froschhaut [22]), der Fischgallenblase [5]) und dem Pansenepithel [19]).

Die im Verlauf der beschriebenen Experimente vor dem Eindringen der Elektroden in das Lumen beobachteten Potentialdifferenzen entsprachen unabhängig vom Verfahren sowohl hinsichtlich ihrer Größe und Häufigkeitsverteilung wie auch ihrer Lokalisation ganz unseren früher mitgeteilten Befunden.

C. Resultate

I. E f f e k t i v e r W a n d w i d e r s t a n d (R_{eff})

1. Experimente mit jeweils zwei Mikroelektroden.
12 Einzelwerte aus Versuchen dieser Art streuen zwischen 25 und 41 k Ω und ergeben einen Mittelwert von (33 ± 2,1) k Ω (SE).

2. Experimente mit doppelläufigen Elektroden.
Für die Auswertung von R_{eff} aus diesen Experimenten wurden nur solche Versuche akzeptiert, bei denen die Lokalisation der Spitze im Lumen durch Ausspritzen für beide Schenkel gesichert war und bei denen die Widerstandsanzeige nicht durch starke pulssynchrone Fluktuationen gestört war. Solche Fluktuationen des Widerstandes kommen vermutlich dann zustande, wenn die Capillarspitze während der Messung die innere Tubuluswand berührt, denn der gleiche Effekt wurde beobachtet, wenn die Capillare vor der Punktion leicht auf die Nierenoberfläche aufgelegt wurde.

Mit Ling-Gerardschen Doppelelektroden ließen sich so in Versuchen an 3 Tieren 10 Einzelmessungen gewinnen, die mit Werten zwischen 60 und 190 k Ω erheblich streuen. Der Mittelwert beträgt (100 ± 25) k Ω (SE).

Mit angeschliffenen Doppelelektroden ergaben sich in 14 Einzelmessungen an 5 Tieren jeweils geringfügige Differenzen zwischen der Widerstandsanzeige vor und nach dem zum Zwecke der Spitzenlokalisation vorgenommenen Ausspritzen von Capillarflüssigkeit. Die Werte vor dem Ausspritzen streuen zwischen 15 und 46 k Ω mit einem Mittelwert von (32 ± 1,3) k Ω (SE); die nach dem Ausspritzen gemessenen Werte liegen zwischen 19 und 39 k Ω und ergeben einen Mittelwert von (26 ± 1,7) k Ω (SE).

3. Verschieben einer Ölsäule.
Aus diesem Experiment folgt nach der im Anhang gegebenen Interpretation mit Hilfe der Ausgleichsrechnung ein Wert von (25 ± 1,5) k Ω (SE). Vgl. dazu die Bemerkungen im folgenden Abschnitt II,1.

II. Längenkonstante (λ)

1. Verschieben einer Ölsäule.

Nach dieser Methode wurden drei Meßreihen aufgenommen. In zwei Meßreihen lagen die Spitzen der einspeisenden und der messenden Capillare praktisch an der gleichen Stelle, während in der dritten ihr Abstand 13 μ betrug. Jedesmal wurde bei gleichen Positionen der Ölfront sowohl bei vordringendem als auch bei zurückweichendem Öl gemessen. Die Resultate zeigt Abb. 2. Darin sind die offenen und die geschlossenen Kreise Mittelwerte der Hin- und Rückmessungen der Versuche, in denen beide Elektrodenspitzen am gleichen Ort lagen ($d \approx 0$). Die eingetragene Funktion entspricht dem Zusammenhang zwischen U und l, der unter den im Anhang aufgeführten Voraussetzungen nach der Kabeltheorie zu erwarten ist (Gleichung (7), bzw. (9), Anhang). Die Parameter dieser Funktion, $z = 2 R_{eff}$ und λ, wurden aus den fünf ausgefüllten Kreisen mit Hilfe der Ausgleichsrechnung bestimmt. Die bei $l < 2r$ gemessenen Werte wurden dafür nicht berücksichtigt (siehe unten Diskussion). Es ergab sich so $\lambda = (78 \pm 8{,}2)\,\mu$ (SE) und $R_{eff} = (25 \pm 1{,}5)$ kΩ (SE). Die bei einem Elektrodenspitzenabstand von $d \approx 13\,\mu$ aufgenommene Meßreihe (Dreiecke) wurde nach der Gleichung (8) mit $\lambda = 78\,\mu$ auf $d = 0$ umgerechnet. Alle Meßpunkte, einschließlich derer, die ohne jedes Öl im Tubulus gemessen waren und damit der Asymptoten der Funktion (7) entsprechen, sind mit der berechneten Funktion vereinbar. Die Höhe der Kopplungsimpulse ändert sich bei Variation der Entfernung l der Ölfront von 0 bis ∞ um etwa den theoretisch erwarteten Faktor 2.

Diese beiden Befunde sprechen dafür, daß die Kabeltheorie für die Beschreibung des Ölverschiebeexperimentes eine brauchbare Näherung darstellt - trotz der Einwände, die gegen das ihr zugrundeliegende vereinfachte Tubulusmodell erhoben werden müssen -, und daß in diesem Experiment Leckbildungen am Ort der Einspeisung und der Potentialmessung keine große Rolle gespielt haben. Schließlich spricht die Beobachtung, daß sich die Werte bei vordringendem und bei zurückweichendem Öl nicht auffällig systematisch unterschieden, dagegen, daß das Tubulusepithel durch die Berührung mit dem Rizinusöl in einer für elektrische Messungen relevanten Weise alteriert worden sein könnte.

2. Capillarverschieben.
In zwei auswertbaren Experimenten, in denen die Spitzen der Capillaren zwischen Entfernungen von 2 - 44 μ vom Ort der Einspeisung mehrfach vor- und zurückgeschoben wurden, ergaben sich Impulshöhenvariationen, aus denen acht λ -Werte zwischen 60 und 190 μ folgen mit einem Mittelwert von (97 $\pm$ 15) μ (SE). Daß bei diesem Verfahren transmurale Lecks entstehen können, geht aus der Beobachtung hervor, daß die Absolutwerte der Kopplungsimpulse bei mehrfachem Vor- und Zurückschieben der Meßcapillare gelegentlich sprunghaft abnahmen. Eine Extrapolation auf U_o und dadurch eine direkte Bestimmung von R_{eff} aus U_o/I_o war daher nicht möglich.

3. Gleichzeitige Spannungsmessung in zwei Lumenquerschnitten.
Das Resultat von sechs Messungen an drei Tieren mit der Methode der zwei spannungsmessenden Capillaren zeigt Abb. 3. Die Spitzenabstände der messenden Capillaren lagen dabei zwischen 59 und 235 μ. Aus den sechs Wertepaaren folgt ein Mittelwert für λ von (86 $\pm$ 3) μ (SE).

D. Diskussion

Die nach den verschiedenen Methoden gewonnenen experimentellen Werte für λ und R_{eff} sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle der Resultate für R_{eff} und λ

Methode	$(R_{eff} \pm SE)\ [k\Omega]$	$(\lambda \pm SE)\ [\mu]$
Zwei Einzelcapillaren	$33 \pm 2{,}1$	-
Ling-Gerard-Doppelelektroden	100 ± 25	-
Angeschliffene Doppelelektroden	$32 \pm 1{,}3$	-
Verschieben einer Ölsäule	$25 \pm 1{,}5$	78 ± 8
Capillarverschieben	-	97 ± 15
Messung in 2 Lumenquerschnitten	-	86 ± 3

Unter den R_{eff}-Bestimmungen darf das Resultat der Kopplungsversuche zwischen zwei einzelnen, an derselben Stelle in den Tubulus eingestochenen Capillaren für relativ zuverlässig gelten. Die Streuung der Einzelwerte war in diesen Experimenten gering.

Bei den Resultaten der Messungen mit Doppelelektroden besteht eine nicht erklärte Diskrepanz zwischen den Meßreihen, die mit angeschliffenen und denen, die mit nicht angeschliffenen (Ling-Gerard-) Elektroden aufgenommen wurden. Die Einzelmessungen der Versuche mit Ling-Gerardschen Doppelelektroden streuen allerdings so stark, daß es zweifelhaft erscheint, ob eine Mittelwertbildung daraus überhaupt zulässig ist. Kein Wert dieser Gruppe überlappt sich mit den Streuungen der anderen Experimente.

Die Ergebnisse der Messungen mit angeschliffenen Doppelelektroden sind zahlreicher und streuen viel weniger. Allerdings zeigt sich eine Differenz zwischen den Werten vor und nach dem Ausspritzen von Elektrodenflüssigkeit. In anderen Versuchen, in denen im Tubuluslumen durch Perfusion mit Cholinchlorid künstlich eine transtubuläre Potentialdifferenz er-

zeugt worden war, ließ sich nach Punktionen mit angeschliffenen Capillaren und besonders nach Ausspritzen daraus wiederholt ein Abfall dieser Potentialdifferenz bis zum Zusammenbruch beobachten. Es ist zu vermuten, daß bei diesen Capillaren die Gefahr einer Leckerzeugung besonders groß ist; der in den Versuchen mit angeschliffenen Doppelelektroden gefundene Abfall der Fremdspannung nach Ausspritzen wäre dann als beginnende Leckbildung zu interpretieren. Dementsprechend ist in der Tabelle der Mittelwert der Messungen v o r dem Ausspritzen angegeben.

Dem aus den Ölverschiebeexperimenten folgenden Wert kann nicht ganz das Gewicht eingeräumt werden, das die geringe statistische Fehlerbreite nahelegt. Die Meßergebnisse nach dieser Methode werden zwar durch das vereinfachte Modell des Tubulus in der Kabeltheorie (vgl. Anhang) im allgemeinen gut beschrieben (Abb. 2). Für die Bestimmung von R_{eff} ist jedoch das Verhalten der Ausgleichsfunktion am Ort der Einspeisung, d. h. bei $l = 0$, entscheidend. Gerade in der Umgebung dieses Punktes kann die aus der Theorie folgende Funktion (7) jedoch den Zusammenhang zwischen U (l) und l im realen Tubulus nicht exakt beschreiben, weil die bei der Ableitung angenommene Voraussetzung der flächenhaften Stromeinspeisung nicht erfüllt ist; die Spitzenöffnung der einspeisenden Elektrode ist vielmehr klein im Vergleich zum Lumendurchmesser. Deshalb wurde auch von einer Einbeziehung der bei $l < 2r$ gelegenen Meßwerte in die Ausgleichsrechnung abgesehen. Wegen des relativ großen Abstandes vom O-Punkt der so für die Berechnung von R_{eff} zugrundegelegten Meßwerte und angesichts ihrer dabei geringen Zahl muß deshalb die Unsicherheit des daraus folgenden Wertes größer veranschlagt werden, als dem nur aus der Statistik errechneten Fehler entspricht.

Nach diesen Erwägungen soll auf die Angabe eines Gesamtmittelwertes für R_{eff} verzichtet werden. R_{eff} dürfte höchstens in der Größenordnung von 100 kΩ liegen; ein Wert zwischen 30 und 40 kΩ ist am wahrscheinlichsten.

Bessere Übereinstimmung als die R_{eff}-Werte zeigen die Ergebnisse für λ. Obwohl auch hier die einzelnen Verfahren als unterschiedlich zuverlässig angesehen werden müssen, überlappen sich die drei Meßwerte mit ihren Fehlerbreiten. Das Ergebnis der Experimente mit Spannungsmessung gleichzeitig in zwei Lumenquerschnitten ist am höchsten zu bewerten, weil in diesen Versuchen der Einfluß von Leckbildungen in der Tubuluswand am besten kontrolliert werden konnte. Außerdem war hier die Streuung der Einzelwerte klein. Im Gegensatz dazu war bei den Experimenten mit Capillarverschieben die Streuung der Einzelwerte so groß, daß auch hier die Berechtigung einer Mittelwertbildung fraglich erscheint. Für die Ergebnisse der Versuche, in denen eine Ölsäule im Lumen verschoben wurde, gilt im Prinzip das bereits unter R_{eff} oben Gesagte. Abgesehen von den Näherungen der zur Interpretation benutzten Theorie muß aber noch berücksichtigt werden, daß diese Experimente zum Unterschied von allen anderen in dieser Arbeit referierten am ölblockierten Tubulus ausgeführt wurden. Es muß daher damit gerechnet werden, daß die Tubuluslumina in diesen Versuchen geweitet waren [4], [11] (siehe unten).

Angesichts der so unterschiedlich zu beurteilenden Ergebnisse für λ soll eine Mittelwertbildung aus den drei Einzelwerten unterbleiben. Als zuverlässigster Wert darf $\lambda = 86\,\mu$ gelten.

Vergleicht man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den früheren von WINDHAGER et al. [26] und GIEBISCH et al. [14] (vgl. Einleitung), so ist die Übereinstimmung des λ-Wertes von $86\,\mu$ mit $\lambda = 55\,\mu$ befriedigend. Ein R_{eff} von 1,8 MΩ kann dagegen ausgeschlossen werden.

WINDHAGER et al. hatten bei den ursprünglichen Messungen keinen Wert für eine gleichzeitig bestehende transtubuläre Potentialdifferenz des proximalen Konvolutes angegeben. In den späteren Untersuchungen von GIEBISCH et al. war jedoch eine Potentialdifferenz von -18 mV gemessen worden. Da nach eigenen früheren Befunden [9] keine transtubuläre Potentialdifferenz existiert, läßt sich vermuten, daß bei einer Wider-

standserhöhung von 1,8 MΩ gegenüber dem Bad die Elektrodenspitze nicht frei im Lumen, sondern in Wandstrukturen gelegen hat, die gegen das Lumen noch durch das Material mit einem elektrischen Widerstand dieser Größenordnung isoliert waren - falls Änderungen der Capillarwiderstände während der Punktion in diesen Messungen ausgeschlossen werden können.

Die unabhängige Bestimmung von R_{eff} und λ erlaubt es, nach den Gleichungen (6a) des Anhangs auf den bei elektrischen Messungen am Tubulus wirksamen Lumenradius r_{el} zu schließen. Aus R_{eff} = 30 - 40 kΩ und λ = 86 µ erhalten wir ein r_{el} von 13 - 15 µ ; die zusammengehörigen Werte für R_{eff} und λ aus den Experimenten mit Ölverschieben liefern ein r_{el} = 15,8 µ . Dabei ist für den spezifischen Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit der Wert für isotone NaCl-Lösung bei 33°C von ρ = 50 Ω cm eingesetzt [8]).

Der geometrische Lumenradius ist jedoch deutlich kleiner. Bei freiem Fluß wurde im Zusammenhang mit neueren Perfusionsexperimenten von anderen Autoren [1]), [24]) r_{geom} zu etwa 10 µ bestimmt. Dieser Wert dürfte auch für die hier referierten Freiflußexperimente zutreffen. Für die eine Versuchsreihe mit Verschieben einer Ölfront im Tubulus ist zwar ein größerer geometrischer Radius anzusetzen [4]), [11]); die Werte für R_{eff} aus diesem Experiment liegen aber auch deutlich niedriger.

Zwischen dem geometrischen Lumenradius und dem Radius, der für die elektrische Längsleitfähigkeit verantwortlich ist, besteht somit nach den vorliegenden Messungen eine Differenz. Das ist kein überraschendes Ergebnis. Die Wand des Tubulus ist nicht vernachlässigbar dünn, und ihr elektrischer Widerstand ist weder vollständig in den Membranen der luminalen Seite noch in denen der peritubulären Seite lokalisiert (vgl. [10]). Darüber hinaus muß man es nach elektronenmikroskopischen Bildern und den neueren Befunden von WINDHAGER et al. am proximalen Tubulus der Necturusniere [25]) für wahrscheinlich halten, daß auch in der Säugetierniere intercelluläre Leitungswege einen erheblichen Beitrag zur Gesamtleitfähigkeit

der Tubuluswand liefern, wodurch ein r_{el} zwischen dem inneren und äußeren geometrischen Tubulusradius plausibel würde. Schließlich dürfte eine merkbare Längsleitfähigkeit des Wandzellverbandes im gleichen Sinne wirken. Daß eine solche Längsleitung innerhalb des Wandzellschlauches existiert, kann man seit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von LÖWENSTEIN [16]) und den in der genannten Arbeit von WINDHAGER et al. mitgeteilten Befunden [25]) nicht mehr ausschließen. Die vorliegenden Resultate liefern demnach von experimenteller Seite einen Hinweis darauf, daß die Näherung der einfachen Kabeltheorie zur Interpretation elektrischer Messungen am Tubulus nicht genügt und das dritte Kompartment des Wandzellvolumens auch hier berücksichtigt werden muß.

Nach den Gleichungen (6a) des Anhangs läßt sich aus λ und R_{eff} auch der spezifische Flächenwiderstand des Tubulusepithels σ berechnen. Aus $\lambda = 86\,\mu$, $R_{eff} = 30 - 40\,k\Omega$ und $\rho = 50\,\Omega cm$ folgt $\sigma = 4{,}9 - 5{,}7\,\Omega cm^2$. Im Vergleich zu den Flächenwiderständen anderer Epithelien liegt dieser Wert für den proximalen Tubulus der Rattenniere auffallend niedrig. Einige Zahlen aus der Literatur sind z. B.: Froschhaut $2230\,\Omega cm^2$ [23]), Pansenepithel $200 - 1000\,\Omega cm^2$ [19]), Fischgallenblase $113 \pm 16\,\Omega cm^2$ [5]), Tubulusepithel der Necturusniere $640\,\Omega cm^2$ [25]). Der Unterschied der drei ersten Werte gegenüber dem an der Rattenniere gemessenen mag zu einem Teil durch die extreme Oberflächenvergrößerung der Tubuluswandzellen mit dem Bürstensaum auf der Lumenseite und den basalen Einfältelungen auf der peritubulären Seite erklärbar sein, während der Unterschied zu den Befunden am proximalen Tubulus des Necturus weiterer Untersuchungen bedarf.

Trotz ihres ungewöhnlich niedrigen Wertes dürfte die Wandleitfähigkeit des proximalen Tubulus der Rattenniere durch die hier referierten Messungen in der Größenordnung richtig bestimmt worden sein. Die elektrische Leitfähigkeit der das Lumen begrenzenden epithelialen Membran kann nämlich auch aus unidirektionalen Ionenflüssen berechnet werden. Nach USSING u. ZERAHN [23]) gilt im Falle verschwindenden Nettoflusses für

die partielle Leitfähigkeit k einer Ionensorte i

$$k_i = M_i \cdot zF/RT,$$

worin M_i den unidirektionalen Fluß der Ionensorte i beim Nettofluß 0 bezeichnet. Unidirektionale Flüsse mehrerer An- und Kationen unter Gleichgewichtsbedingungen, also bei Nettofluß 0, wurden kürzlich von BAUMANN u. Mitarb. gemessen [2], [21]). Für den Vergleich der aus diesen Experimenten folgenden Wandleitfähigkeit mit den in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnissen ist es zweckmäßig, die auf die Tubuluslänge bezogenen Flüsse einzusetzen, da bei der Umrechnung auf die von den Ionenflüssen durchsetzte Fläche Annahmen über den Lumenradius nötig sind. Aus $M_{Na^{24}} = 24{,}9 \cdot 10^{-5}$ μeq/cm · sec, $M_{K^{42}} = 0{,}78 \cdot 10^{-5}$ μeq/cm · sec und $M_{Cl^{38}} = 42{,}8 \cdot 10^{-5}$ μeq/cm · sec erhält man mit der Ussingschen Gleichung als Summe der Partialleitfähigkeiten von Na, K und Cl einen Leitwert der Wand des Tubulus von $k = 1{,}55 \cdot 10^{-3}\ \Omega^{-1}\ cm^{-1}$, entsprechend einem Querwiderstand von $1/k = 647\ \Omega cm$.

Berechnet man dieselbe Größe aus dem aus den Experimenten folgenden spezifischen Wandwiderstand und legt dabei die mittleren Werte von $\sigma = 5{,}3\ \Omega cm^2$ und $r_{el} = 14\ \mu$ zugrunde, so ergibt sich nach Gleichung (5b) : $k = 1{,}88 \cdot 10^{-3}\ \Omega^{-1}\ cm^{-1}$ oder $1/k = 602\ \Omega cm$. Die Übereinstimmung dieses Resultates mit dem aus Flußmessungen abgeleiteten ist erstaunlich gut, wenn man bedenkt, auf wie verschiedenen Wegen hier dieselbe Größe ermittelt wurde.

E. Anhang: Ableitung von Formeln zur Auswertung der Messungen nach B III, 3 mit Hilfe der Theorie der homogenen Leitungen

Das Prinzip der Messung von λ nach der Methode des Verschiebens einer Ölsäule im Lumen ist im Abschnitt B III, 3 und in Abb. 2 erläutert. Zur mathematischen Behandlung wird der Tubulus durch das in Abb. 4 dargestellte elektrische Äquivalentschaltbild idealisiert. Zur Vereinfachung der Rechnung nach der Theorie linearer homogener Leitungen werden dabei folgende Annahmen gemacht:

1. Bei Versuchen mit eingespeister Fremdspannung entspricht der Tubulus elektrisch einer passiven symmetrischen linearen homogenen Leitung in einem homogenen leitenden Medium.

2. Die Leitfähigkeit des Öls ist Null im Vergleich zu den übrigen Leitfähigkeiten, d. h. $R_2'' = \infty$

3. Die Länge des ölfreien Tubulus in (-x)-Richtung (über d hinaus) ist groß gegen λ , d. h. $R_2' = z$ (siehe unten).

4. $d \leq 0$.

5. Die Stromeinspeisung erfolgt in der gesamten Fläche eines Lumenquerschnittes an der Stelle x = 0.

6. Die Tubuluswand besteht aus einem homogenen zylindrischen Mantel der Dicke 0 mit dem spezifischen Flächenwiderstand σ .

Dann gilt folgender Ansatz: Die Widerstandsänderung, die eine bei x = 0 in das Lumen eingestochene Elektrode gegenüber dem Bad mißt, entspricht der Parallelschaltung der Widerstände der beiden Tubulushälften T' und T'':

$$R_{eff} = \frac{R_1' \; R_1''}{R_1' + R_1''} \quad . \qquad (1)$$

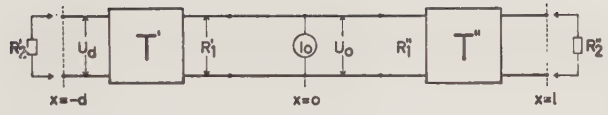

Abb. 4. Vierpol-Äquivalentschaltbild des Tubulus bei λ - Messungen durch Verschieben einer Ölfront (vgl. dazu den Einsatz von Abb. 2). x laufende Längenkoordinate; U_o Spannung im Lumen am Ort der Einspeisung des konstanten Stromes I_o; T' linke Hälfte des Tubulus, R'_1 Eingangswiderstand, R'_2 Abschlußwiderstand, U_d Ausgangsspannung an der Stelle x = d. - T'' Rechte Tubulushälfte, R''_1 Eingangswiderstand, R''_2 Abschlußwiderstand.

Nach den Gleichungen der linearen Vierpoltheorie, die hier wegen Wegfall der Zeitabhängigkeit skalar geschrieben werden, gilt für die linke Tubulushälfte T' wegen Voraussetzung 3 (vgl. z. B. [7]):

$$R_1' = z, \tag{2}$$

worin z der charakteristische Widerstand der Leitung ist (siehe unten (5)).

Für die rechte Tubulushälfte T'' gilt wegen Leerlauf an der Stelle x = 1 nach Voraussetzung (2):

$$R_1'' = z \operatorname{ctgh} \frac{1}{\lambda} . \tag{3}$$

(2) und (3) eingesetzt in (1) ergibt

$$R_{eff}(1) = \frac{z}{1 + \operatorname{tgh} \frac{1}{\lambda}} . \tag{4}$$

Für den charakteristischen Widerstand der Leitung z liefert die Theorie:

$$z = \sqrt{\frac{dR}{dl} \cdot \frac{dl}{dG}} , \tag{5}$$

worin $\frac{dR}{dl}$ den Längswiderstand des Lumens pro Längeneinheit und $\frac{dl}{dG}$ den Querwiderstand der Tubuluswand pro Längeneinheit bedeuten. Nach dieser Definition beträgt der Längswiderstand eines 1 cm langen Lumenstückes

$$\frac{dR}{dl} = \frac{\varrho}{\pi r^2} \left[\frac{\Omega}{cm}\right] . \tag{5a}$$

Darin bezeichnet $\varrho\,[\Omega\,cm]$ den spezifischen Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit und $r\,[cm]$ den Radius des Lumens. - Der Querwiderstand der Wandfläche dieses 1 cm langen Tubulusstückes beträgt

$$\frac{dl}{dG} = \frac{\sigma}{2\pi r} \left[\Omega\,\mathrm{cm}\right] . \qquad (5b)$$

Darin bezeichnet $\sigma\left[\Omega\,\mathrm{cm}^2\right]$ den spezifischen Wand-(Flächen-) Widerstand.

Mit (5a) und (5b) folgt aus (5):

$$z = \sqrt{\frac{\sigma\varrho}{2\pi^2 r^3}} \left[\Omega\right] . \qquad (5c)$$

Für die Längenkonstante liefert die Theorie

$$\lambda = \sqrt{\frac{dl}{dR} \cdot \frac{dl}{dG}} . \qquad (6)$$

Unter Benutzung der Gleichungen (5), (5a), (5b) und (7a) lassen sich daraus die folgenden für die Anwendung bequemen Beziehungen herleiten:

$$\lambda = \sqrt{\frac{\sigma r}{2\varrho}} = \frac{2\pi r^2}{\varrho} \cdot R_{eff}$$

$$\sigma = \frac{2\varrho\lambda^2}{r} = \sqrt{8\pi\varrho\lambda^3 R_{eff}}$$

$$R_{eff} = \frac{1}{2} \cdot \sqrt{\frac{\sigma\varrho}{2\pi^2 r^3}} = \frac{\lambda\varrho}{2\pi r^2}$$

$$r = \sqrt{\frac{\lambda\varrho}{2\pi R_{eff}}} . \qquad (6a)$$

Für die Spannung, die der bekannte Strom I_o an der Stelle $x = 0$ im Tubuluslumen erzeugt, gilt nach (4):

$$U_o(1) = I_o R_{eff}(1) = I_o z \cdot \frac{1}{1 + \mathrm{tgh}\,\frac{l}{\lambda}} . \qquad (7)$$

Daraus lassen sich als Sonderfälle ableiten:

Kein Öl im Tubulus: $U_o(l = \infty) = \frac{1}{2} I_o z$

Ölfront an der Einspeisungsstelle:

$$U_o(l = 0) = I_o z$$

Der effektive Widerstand, der definitionsgemäß dem Verhältnis von Strom zu Spannung im ölfreien Tubulus entspricht, ist damit

$$R_{eff} = \frac{1}{2} z. \qquad (7a)$$

Liegt die spannungsmessende Elektrode mit ihrer Spitze nicht bei x = 0, sondern, wie in Abb. 4 und Abb. 3 angenommen, bei x = -d, so gilt für die Spannungsübertragung in T':

$$U_d = U_o e^{-\frac{d}{\lambda}}. \qquad (8)$$

Durch Multiplikation von (7) mit dem Exponentialfaktor und unter Berücksichtigung von (7a) folgt damit die allgemeine Abhängigkeit der am Ort x = -d gemessenen Spannung vom Abstand der Ölfront vom Ort der Einspeisung:

$$U_d(l) = 2 I_o R_{eff} \cdot \frac{e^{-\frac{d}{\lambda}}}{1 + \operatorname{tgh} \frac{l}{\lambda}}. \qquad (9)$$

F. Zusammenfassung

Der proximale Tubulus wird als elektrisches Kabel aufgefaßt, dessen leitender Kern durch die im Lumen befindliche Flüssigkeit und dessen Isolation durch das Wandepithel gebildet werden. Nach mehreren von einander unabhängigen Methoden wird sowohl die e-Wertlänge für den Abfall einer in das Lumen eingespeisten Fremdspannung ("Längenkonstante λ ") als auch der pauschale Widerstand zwischen Lumen und Interstitium gemessen ("effektiver Wandwiderstand R_{eff}"). Als wahrscheinlichste Werte ergeben sich $\lambda = 86 \mu$ und $R_{eff} = 30 - 40\ k\Omega$. Mit Hilfe der Theorie homogener Leitungen ("Kabeltheorie") ist es möglich, aus diesen Meßergebnissen auf einen spezifischen elektrischen (Flächen-)Widerstand des Tubulusepithels von $4,9 - 5,7\ \Omega cm^2$ zu schließen. Dieser Wert liegt im Vergleich zu anderen Epithelien auffallend niedrig, doch stimmt er mit Resultaten aus neueren Messungen unidirektionaler Ionenflüsse durch andere Autoren erstaunlich gut überein. Gleichzeitig ergibt sich, daß der bei elektrischen Messungen wirksame Lumendurchmesser mit $26 - 30 \mu$ größer als der geometrische angenommen werden muß.

G. Literatur

1) BAINES, A. D., P. P. LEYSSAC, and C. W. GOTTSCHALK: Proximal tubular volume and inulin clearance in non-diuretic rats. Internat. Congr. Nephrol., Vol. II, p. 152. Washington 1966.

2) BAUMANN, K., H. HOLZGREVE, F. KOLB, R. PETERS, G. RUMRICH u. K. J. ULLRICH: Unidirektionale Flüsse für Na^{24}, K^{42}, Ca^{45}, Cl^{38}, Br^{82} und J^{131} im proximalen Konvolut der Rattenniere. Pflügers Arch. ges. Physiol. 289, R 77 (1966). Ausführliche Veröffentlichung in Pflügers Arch. ges. Physiol. (in Vorbereitung).

3) BLOOMER, A. H., F. C. RECTOR jr., and D. W. SELDIN: The mechanism of potassium reabsorption in the proximal tubule of the rat. J. clin. Invest. 42, 277 (1963).

4) BRUNNER, F. P., F. C. RECTOR, and D. W. SELDIN: Mechanism of glomerulotubular balance. II: Regulation of proximal tubular reabsorption by tubular volume, as studied by stopped-flow microperfusion. J. clin. Invest. 45, 603 (1966).

5) DIAMOND, J. R.: The mechanism of solute transport by the gall bladder. J. Physiol. (Lond.) 161, 474 (1962).

6) FATT, P., and B. KATZ: The electrical properties of crustacean muscle fibres. J. Physiol. (Lond.) 120, 171 (1953).

7) FELDTKELLER, R.: Einführung in die Vierpoltheorie der elektrischen Nachrichtentechnik. Leipzig: Hirzel 1948.

8) FRANK , K., and M. C. BECKER: Microelectrodes for recording and stimulation. In: Physical Techniques in Biological Research, ed. by W. L. NASTUK, Vol. V, p. 22. Chapt. 2. New York: Academic Press 1964.

9) FRÖMTER, E., u. U. HEGEL: Transtubuläre Potentialdifferenzen an proximalen und distalen Tubuli der Rattenniere. Pflügers Arch. ges. Physiol. 291, 107 (1966).

[10]) - T. NICK u. U. HEGEL: Untersuchungen zur Ausspritzmethode für die Lokalisation der Mikroelektrodenspitze bei transtubulären Potentialmessungen an der Ratte. Pflügers Arch. ges. Physiol. 294, 265 (1967).

[11]) GERTZ, K. H.: Transtubuläre Natriumchloridflüsse und Permeabilität für Nichtelektrolyte im proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere. Pflügers Arch. ges. Physiol. 276, 336 (1963).

[12]) GIEBISCH, G.: Electrical potential measurements on single nephrons of Necturus, J. cell. comp. Physiol. 51, 221 (1958).

[13]) - Effect of ionic substitutions on distal transtubular potential differences of rat kidney. 23. Internat. Congr. Physiol. Sci., Tokyo 1965, Abstr. p. 4.

[14]) - R. M. KLOSE, G. MALNIC, W. J. SULLIVAN, and E. E. WINDHAGER: Sodium movement across single perfused proximal tubules of rat kidneys. J. gen. Physiol. 47, 1175 (1964).

[15]) HEGEL, U., u. E. FRÖMTER: Erfahrungen mit der Öltropfenmethode zur Lokalisation der Mikroelektrodenspitze bei transtubulären Potentialmessungen an der Rattenniere. Pflügers Arch. ges. Physiol. 291, 121 (1966).

[16]) LOEWENSTEIN, W. R.: Permeability of membrane junctions. Ann. N. Y. Acad. Sci. 137, 441 (1966).

[17]) MURALT, A. VON: Einführung in die Praktische Physiologie. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1948.

[18]) STEINHAUSEN, M.: Eine Methode zur Differenzierung proximaler und distaler Tubuli der Nierenrinde von Ratten in vivo und ihre Anwendung zur Bestimmung tubulärer Strömungsgeschwindigkeiten. Pflügers Arch. ges. Physiol. 277, 23 (1963).

[19]) STEVENS, CH. E.: Transport of sodium and chloride by the isolated rumen epithelium. Amer. J. Physiol. 206, 1099 (1964)

[20]) TASAKI, I., B. H. POLLEY, and F. ORREGO: Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex. J. Neurophysiol. 17, 454 (1954).

[21]) ULLRICH, K. J., K. BAUMANN, K. LOESCHKE, G. RUMRICH, and H. STOLTE: Micropuncture experiments with saluretic sulfonamides. Ann. N. Y. Acad. Sci. (in press).

[22]) USSING, H. H., and E. E. WINDHAGER: Nature of shunt path and active Na-transport path through frog skin epithelium. Acta physiol. scand. 61, 484 (1964).

[23]) -, and K. ZEHRAN: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. Acta physiol. scand. 23, 110 (1951).

[24]) WIEDERHOLT, M., K. HIERHOLZER, E. E. WINDHAGER u. G. GIEBISCH: Einfluß unterschiedlicher Perfusionsraten auf die proximale Flüssigkeitsresorption (Mikroperfusionsuntersuchungen an der Rattenniere). Pflügers Arch. ges. Physiol. 289, R 68 (1966). Die ausführliche Veröffentlichung befindet sich unter dem Titel "Effect of different rates of perfusion on fluid reabsorption in single proximal tubules of rat kidney" im J. Amer. Physiol. (im Druck).

[25]) WINDHAGER, E. E., E. L. BOULPAEP, and G. GIEBISCH: Electrophysiological studies on single nephrons. Internat. Congr. Nephrol., Vol. I, p. 68. Washington 1966.

[26]) -, and G. GIEBISCH: Comparison of short circuit current and net water movement in single perfused proximal tubules of rat kidneys. Nature (Lond.) 191, 1205 (1961).

[27]) WOODBURY, D. M., and J. W. WOODBURY: Correlation of microelectrode potential recordings with histology of rat and Guinea-pig thyroid glands. J. Physiol. (Lond.) 169, 553 (1963).

Herrn Prof. Dr. K. J. Ullrich danke ich für die Anregung der ursprünglichen Fragestellung, aus der unter anderen Arbeiten auch die hier vorliegende hervorging. Ihm, wie auch Herrn Priv. Doz. Dr. K. Hierholzer danke ich für fördernde Diskussionen.

Herrn Dr. E. Frömter danke ich vor allem für die gute Zusammenarbeit bei der Bewältigung der vielen experimentellen Schwierigkeiten und der Durchführung der Messungen.

Wertvolle technische Hilfe verdanke ich auch Herrn cand. med. T. Wick und Frl. A. Westphal.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die Arbeit durch finanzielle Unterstützung ermöglicht.

H. Lebenslauf

Am 2.Mai 1930 wurde ich, Ulrich Hegel, in Berlin als Sohn des Patentanwalts Dr.Karl Hegel und seiner Ehefrau Ilse, geb. Lüders, geboren. Von 1936 bis 1939 besuchte ich die Grundschule in Berlin-Zehlendorf. Danach war ich Schüler des Zehlendorfer humanistischen Gymnasiums. Nach Kriegsende war ich zunächst zwei Jahre als landwirtschaftlicher Hilfsarbeiter tätig, bis ich meine Schulbildung am Gymnasium in Lüneburg fortsetzen konnte. 1951 bestand ich dort das Abitur.

Von 1951 bis 1960 studierte ich an den Universitäten Göttingen und Heidelberg Physik. 1956 legte ich die Diplomhauptprüfung ab, 1960 wurde ich zum Dr.rer.nat. promoviert. Danach war ich als wissenschaftlicher Assistent bis zum Frühjahr 1962 im Europäischen Kernforschungsinstitut CERN in Genf tätig. Während dieser Zeit entschloß ich mich, nach Beendigung der laufenden Arbeiten aus der Physik auszuscheiden und ein Medizinstudium zu beginnen mit dem Ziel, den ärztlichen Beruf auszuüben.

Im Frühjahr 1964 bestand ich an der Freien Universität Berlin die ärztliche Vorprüfung. Neben dem klinischen Studium beschäftigte ich mich im Physiologischen Institut der FU in der Abteilung von Prof. Dr.K.J.Ullrich mit Untersuchungen über elektrische Potentialdifferenzen in der Warmblüterniere. Ein Teil der dabei gewonnenen Ergebnisse ist in der vorliegenden Dissertation enthalten.

Am 12. September 1967 beendete ich mein medizinisches Staatsexamen an der Freien Universität Berlin.

Berlin, Oktober 1967